Rev. Écol. Biol. Sol, 1987, **24** (3) : 431-441.

Importance des pigments bruns dans les racines superficielles du hêtre (*Fagus silvatica* L.) et biodégradation dans le sol

PAR

M. BARAER et F. TOUTAIN

Centre de Pédologie Biologique du C.N.R.S.
B. P. 5, 54501 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex (France)

Synopsis: Successive and selective extractions with a sequence of organic solvants show that brown pigments in the roots of soil's surface of beech are quantitatively important with high nitrogen content (17 % of the total carbon and 85 % of the total nitrogen of the dead roots). These products are resistant to biodegradation and persist a long time in the soil except when white rot basidiomyceta fungi or earthworms are present.

Keywords: humification, roots, biodegradation, brown pigments, beech.

INTRODUCTION

L'humification a été étudiée sur divers matériaux, en particulier sur les feuilles. Certains auteurs se sont attachés à rechercher les précurseurs des substances humiques dans les matériaux végétaux initiaux, et ceci en étudiant l'évolution des constituants cellulaires après la mort des cellules (MANGENOT *et al.*, 1966 ; DAVIES, 1971).

Ainsi, les caractéristiques et propriétés chimiques et physiques des pigments bruns (complexes polyphénoliques), qui s'accumulent dans l'espace cellulaire foliaire au moment de la sénescence des feuilles, permettent de les considérer comme des précurseurs des substances humiques (NICOLAUS, 1968 ; METCHE *et al.*, 1970 ; KONONOVA et ALEXANDROVA, 1973 ; MINDERMAN, 1979 ; ANDREUX, 1981 ; RAFIDISON, 1982). Ces pigments bruns, très riches en azote, constituent une source importante de substances humiques (FRANÇOIS *et al.*, 1986), très résistantes à la décomposition microbienne (LEWIS et STARKEY, 1968).

Sur les racines, à notre connaissance, il n'y a eu que très peu de recherches de faites sur l'humification, en partant du matériel vivant et en suivant son évolution. Pourtant les racines constituent une part non négligeable (> 10 % de la biomasse sèche) du matériel vivant apporté au sol (CANNEL, 1982).

Nous nous proposons ici d'étudier les premières étapes de l'humification racinaire du hêtre (*Fagus silvatica* L.) que nous avons pris comme exemple, en cherchant à localiser les pigments bruns, à voir leur importance dans les racines vivantes et les racines mortes, et à suivre leur biodégradation et leur transformation d'une part sur des lames d'humus prélevées en place, ce qui permet de cerner les activités fauniques, et d'autre part avec le microscope électronique à transmission qui permet de repérer les activités des micro-organismes.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

A) Station.

Les racines de hêtre proviennent de la station de Bezange, sous hêtraie, près de Château-Salins en Meurthe-et-Moselle. Le sol est un podzol humo-ferrugineux à moder se développant sur grès rhétien. La station a déjà été décrite par TOUTAIN (1972).

B) Matériel.

Les racines ont été prélevées à la base de la litière, à la surface du sol.

La distinction entre racines vivantes et racines mortes a pu être faite après une dissection : les tissus internes d'une racine vivante sont blancs, ceux d'une racine morte sont bruns. De plus, les racines vivantes sont turgescentes alors que les racines mortes ne le sont pas.

C) Méthodes.

1. *Méthodes d'observations.*

a) Observations au microscope optique.

La localisation des pigments bruns se fait sur des coupes transversales de racines de 3,5 µm d'épaisseur, préalablement fixées à la navaschine, et incluse dans de la paraffine après une déshydratation à l'alcool.

Les coupes, après déparaffinage, sont colorées soit par une solution aqueuse de perchlorure de fer à 28 % (qui indique la présence des tanins hydrolysables) pendant 20 minutes, soit par une solution de vanilline à 5 % dans de l'alcool à 95° (qui colore les tanins condensés) pendant 10 minutes (avec ensuite un passage rapide dans HCl 6N). Les coupes sont ensuite montées à l'Eukitt après une déshydratation.

Les lames minces d'humus sont effectuées à partir d'échantillons prélevés dans des boîtes de Kubiena, et imprégnés de résine sous vide.

b) Observations au microscope électronique à transmission.

Après fixation au glutaraldéhyde à 2,5 % dans du tampon pH 7,2 pendant 12 h, et fixation au tétroxyde d'osmium à 2 % pendant 2 h, les échantillons sont déshydratés et inclus dans de la résine Polarbed 812. Les coupes fines, contrastées à l'acétate d'uranyl et au citrate de plomb (REYNOLDS, 1963), sont observées avec un microscope électronique à transmission Zeiss EM 9S2 à 60 kV.

2. *Méthode d'extraction : extraction par solvants organiques, obtention des pigments bruns.*

Les pigments bruns sont obtenus par extractions successives et sélectives avec une séquence de solvants organiques (méthanol, chloroforme, acétate d'éthyle, acétone + eau, diméthylformanide DMFA) suivant la méthode préconisée par THOMPSON *et al.* (1972),

Deux grammes de poudre de racines sèches broyées à 80 µm sont dispersés dans du méthanol (40 ml pour 1 g), et filtrés sous vide sur filtre GFA Whatmann. Le résidu est repris dans les mêmes conditions (40 ml pour 1 g de matériel initial) par le chloroforme, l'acétate d'éthyle, le mélange acétone-eau (50/50), successivement. Suivent deux extractions au DMFA sous reflux à 130° C, la première pendant une nuit avec 40 ml, la deuxième pendant 3 h avec 20 ml. Les deux filtrats sont rassemblés, concentrés et lavés à l'éther éthylique.

Les extraits sont séchés sous vide phosphorique et pesés. Leur teneur en carbone et azote est déterminée par un analyseur « Carlo-Erba ».

II. — RÉSULTATS

A) Localisation des pigments bruns dans les racines.

Les observations au microscope optique permettent la mise en évidence dans une racine vivante de structure primaire, des tanins hydrolysables dans l'endoderme, et dans quelques cellules du bois. Dans une racine vivante de structure secondaire, les tanins hydrolysables sont localisés essentiellement dans le suber et dans quelques cellules phellodermiques. On trouve les tanins condensés dans les mêmes tissus. Dans les racines mortes, les tanins sont présents dans les mêmes tissus, mais de façon plus diffuse.

Les observations au microscope électronique confirment ces résultats :

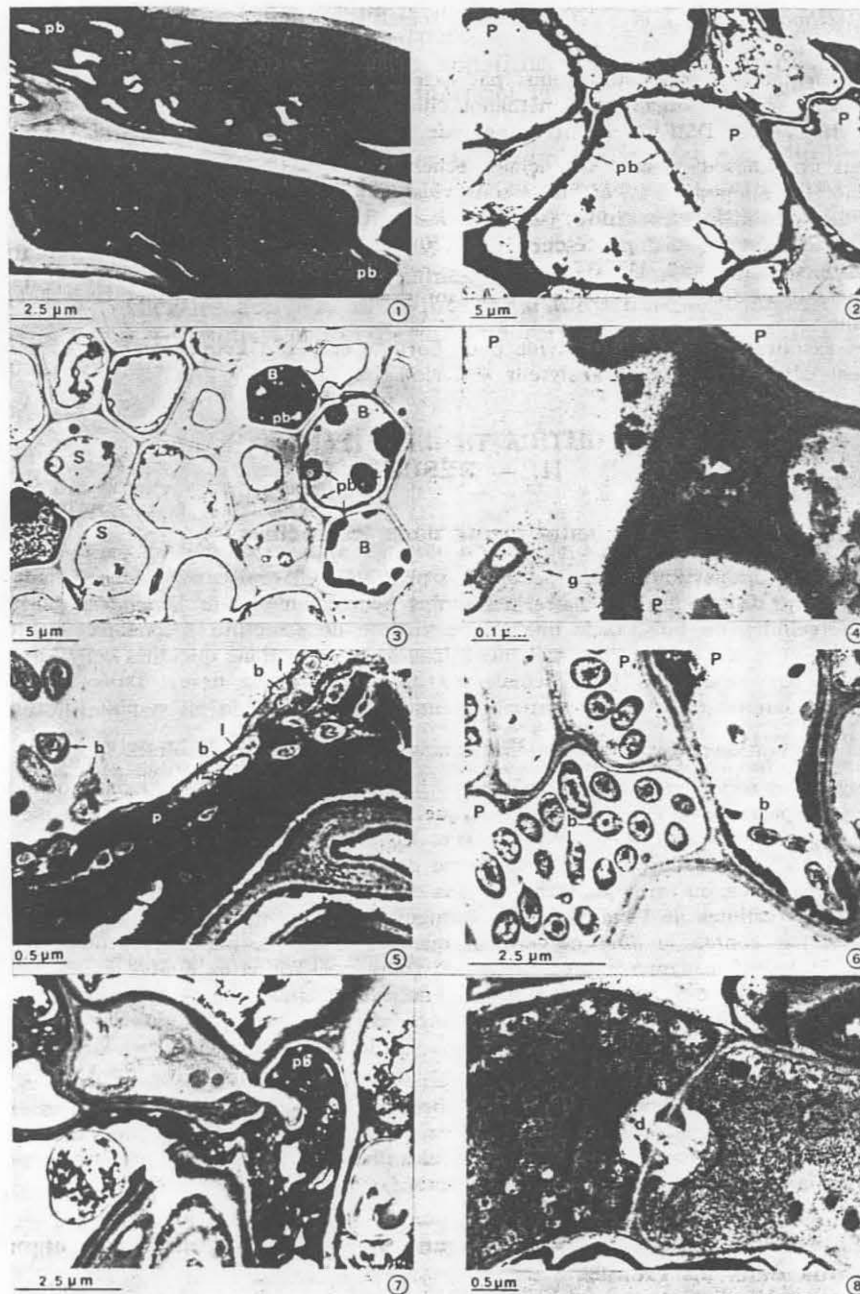
Dans les *racines vivantes*, les pigments bruns (opaques aux électrons) présentent différents aspects suivant les tissus dans lesquels on les trouve. Dans le *suber*, les pigments bruns remplissent les cellules (Pl. I.1). Dans les cellules du *parenchyme* (phelloderme), les pigments bruns se présentent sous forme de revêtement plus ou moins régulier sur les parois internes, ou (et) sous forme d'amas dans l'espace cellulaire de certaines cellules (Pl. I.2). Les cellules de l'*endoderme* renferment des pigments bruns dans tout l'espace cellulaire. Par contre, le *liber* ne contient que des traces de pigments bruns. Dans les cellules du *bois*, les pigments bruns sont peu fréquents. Toutefois quand on les observe, ils se présentent sous 3 aspects : remplissage de cellules, revêtements irréguliers, continus ou non et d'importance variable suivant les cellules, ou (et) amas globulaires (Pl. I.3). Dans les fibres du *sclérenchyme*, on trouve quelques pigments bruns d'aspect diffus (Pl. I.3.).

Dans les *racines mortes*, les pigments bruns se localisent dans ces mêmes tissus, mais ils se présentent généralement de manière plus diffuse. Ceci est dû à des stades divers de dégradation au niveau des cellules, qui entraîne des contractions et ruptures cellulaires, et la libération possible de ces composés dans le milieu extérieur.

B) Extraction par des solvants organiques - quantification des pigments bruns dans les racines.

1. *Extraits divers autres que les pigments bruns.*

La *fraction soluble* (dans le méthanol) représente 13,3 % du poids total des racines vivantes, avec un C/N de l'ordre de 120. Cette fraction contient beaucoup de C (56 %) et peu d'N (0,5 %) par rapport aux racines initiales (C : 49 %). Dans les racines mortes, cette fraction ne représente plus que 5,4 % du poids total, et contient nettement moins



Pl. I. — Observations de racines de hêtre au MET : localisation des pigments bruns, biodégradation.

1. Cellules du suber remplies de pigments bruns (pb).
2. Cellules du parenchyme (P), au niveau du réseau de Hartig, avec pigments bruns (pb) en revêtement sur les parois et en amas dans l'espace intra-cellulaire.
3. Cellules du bois (B) avec pigments bruns (pb) en remplissage de cellules, en revêtement et en amas. Cellules du sclérenchyme (S) avec pigments bruns diffus.

de C exprimé en % du C total : 6,8 % contre 15,6 % dans les racines vivantes. Le pourcentage d'N par rapport à l'N total est peu différent dans les deux cas : 5,8 % dans les racines vivantes, 5,6 % dans les racines mortes. Ces composés étant des molécules relativement simples, la différence entre les taux d'extraction obtenus entre racines vivantes et racines mortes pourrait être due à des phénomènes de lessivage et d'altération biologique et chimique (Tab. I et II).

Les *pigments colorés et graisses* (extraits au chloroforme), ne constituent que 0,2 % du poids total des racines vivantes. Dans les racines mortes, ces composés sont deux fois plus importants : 0,4 %, mais restent de toute façon très minoritaires.

Les *polyphénols et tanins de bas poids moléculaires* (extraits à l'acétate d'éthyle) sont aussi peu représentés dans les racines vivantes (0,04 %) que dans les racines mortes (0,05 %).

2. *Pigments bruns.*

Les pigments bruns, extraits avec le mélange acétone + eau, représentent à peine 3 % du poids total des racines vivantes et des racines mortes, et 3 % du C total (Tab. I et II).

TAB. I

Composition élémentaire des *racines vivantes*, distribution du C et de N dans les extraits des solvants organiques

	Composition élémentaire			Distribution		
	% C	% N	C/N	Poids %	C en % C tot.	N en % N tot.
RACINES INITIALES	49,4	1,04	47,5	100	100	100
Méthanol	55,9	0,45	124,2	13,3	15,6	5,8
Chloroforme	nd	nd		0,22	nd	nd
Acétate d'éthyle	ns	ns		0,04	ns	ns
Acétone + eau	46,4	2,35	19,7	2,9	2,8	6,6
DMFA	53,1	4,82	11,0	10,5	11,7	48,8

nd : non dosé.
ns : non décelable.

4. Dégradation de parois de cellules parenchymateuses (P), parois opaques aux électrons, libération de granules (g).
5. Paroi (p) granulaire, au niveau du réseau de Hartig, colonisées par des bactéries (b) entraînant une lyse (1).
6. Cellules du parenchyme (P) à parois peu biodégradées envahies par des bactéries (b).
7. Hyphe mycélien (h) traversant une paroi de cellule parenchymateuse (p), et dégradant des pigments bruns (pb). Zone de lyse (1) à l'apex du champignon.
8. Dolipore (d) caractéristique des champignons Basidiomycètes.

Ces pigments bruns, dans les racines vivantes, ont une teneur en N (2,4 %) supérieure à celle obtenue dans les mêmes conditions dans les racines mortes (1,7 %). Mais si on rapporte ces chiffres au poids initial des racines, on constate que les pigments bruns des racines vivantes renferment un pourcentage moindre de l'N initial de la racine (6,6 %) que ceux des racines mortes (8,1 %).

TAB. II

Composition élémentaire des *racines mortes*, et distribution du C et de N dans les extraits des solvants organiques

	Composition élémentaire			Distribution		
	% C	% N	C/N	Poids %	C en % C tot.	N en % N tot.
RACINES INITIALES	48,3	1,46	33,1	100	100	100
Méthanol	55,7	0,66	84,4	5,4	6,8	5,6
Chloroforme	nd	nd		0,4	nd	nd
Acétate d'éthyle	ns	ns		0,05	ns	ns
Acétone + eau	42,5	1,73	24,5	3	2,9	8,1
DMFA	53	4,02	13,2	12,1	14,5	77,0

nd : non dosé.
ns : non décelable.

Par contre, les pigments bruns, obtenus avec le DMFA, donc dans des conditions plus drastiques, sont beaucoup plus riches en N que ceux obtenus avec le mélange acétone + eau. Ces pigments bruns représentent 10,5 % du poids total des racines vivantes et 11,7 % du C total, 12,1 % du poids total, et 14,5 % du C total des racines mortes. On n'observe pas de différence significative de teneur en C entre pigments bruns extraits des racines vivantes (53,1 %), et des racines mortes (53,0 %). Par contre, les teneurs en N des pigments bruns, extraits au DMFA sont plus élevées dans les racines vivantes (4,8 %) que dans les racines mortes (4,0 %), mais si on tient compte des poids initiaux, on constate que les pigments bruns des racines vivantes extraits au DMFA représentent seulement 48,8 % de l'azote total de la racine contre 77,0 % dans les racines mortes.

C) Biodégradation.

1. *Observations de lames d'humus.*

L'étude de lames d'humus met en évidence la préférence de certains animaux décomposeurs (Enchytraéides), dans le milieu étudié, pour des tissus particuliers de la racine.

Ainsi, le liber est le premier tissu à être consommé comme l'indique l'existence de vides à son niveau et la présence de boulettes fécales à son emplacement. Ces boulettes fécales ont les caractéristiques des déjections d'Enchytraéides (Annelides, Oligochètes, animaux fréquents dans les humus de type moder (ZACHARIAE, 1964 ; BABEL, 1975)). Les Enchytraéides sont également capables d'ingérer d'autres tissus tendres de la racine en dehors du suber qui est un tissu très riche en pigments bruns. Les Enchytraéides ne possédant pas le système enzymatique permettant de dégrader les pigments bruns, ils les rejettent non transformés dans leurs boulettes fécales (TOUTAIN, 1981).

Dans d'autres milieux, les vers de terre semblent avoir un rôle déterminant dans les transformations subies par le matériel racinaire. Ceci est l'objet d'une étude actuelle.

2. *Observations au microscope électronique à transmission.*

Les observations sur racines vivantes présentant des traces d'altération, et sur des racines mortes, mettent en évidence deux types de biodégradation qui se traduisent par des transformations au niveau des parois, et par des actions lytiques.

Au niveau des parois, nous observons une augmentation de l'opacité aux électrons des parois pectocellulosiques (Pl. I.4) qui peut avoir plusieurs origines. Elle peut être due soit à l'imprégnation naturelle des parois par les éléments minéraux comme le fer, l'aluminium et le manganèse opaques aux électrons (FOSTER et MARTIN, 1981), ce qui ne semble pas être le cas ici, soit à la présence de composés polyphénoliques osmiophiles (FOSTER, 1978) dont l'existence au niveau des parois serait déjà la conséquence d'une préhumification. Ces parois (Pl. I.4) sont devenues granuleuses, et libèrent des granules de quelques centaines d'angströms opaques aux électrons dans le milieu.

Sur les parois de tissus lignifiés, nous n'avons pas observé de transformations. Ce sont des tissus beaucoup plus résistants à la biodégradation que les tissus cellulosiques.

Les actions lytiques décelées à partir d'organismes en place montrent le rôle des bactéries et des champignons.

Les bactéries colonisent les parois et s'y développent (Pl. I.5). Les zones d'éclaircissement qui les entourent quand elles s'installent dans les parois opaques, mettent en évidence leurs activités lytiques vis-à-vis de ces parois en voie d'humification. Des bactéries se développent également dans l'espace cellulaire (Pl. I.6). Certaines sont en cours de division, ce qui prouve leur activité.

Dans ce matériel racinaire en voie de transformation, on constate aussi la présence de champignons. Ils sont capables de traverser les parois cellulaires (Pl. I.7). Ils possèdent donc un système enzymatique leur conférant une activité cellulolytique. Ainsi, ils peuvent atteindre les pigments bruns riches en azote (Pl. I.7) pour les métaboliser, entraînant un éclaircissement de ce matériel au MET. La zone de lyse des pigments bruns se situe à l'apex du champignon. Le dolipore caractéristique (Pl. I.8), permet de rattacher ces champignons au groupe des Basidiomycètes. Il s'agit très vraisemblablement de champignons de la pourriture blanche.

III. — DISCUSSION - CONCLUSION

Cette étude met en évidence, comme celle faite sur les litières foliaires, l'importance des pigments bruns. Dans les feuilles, les pigments bruns ne sont présents uniquement que dans deux types de tissus : épiderme et parenchyme (TOUTAIN, 1981). Dans les racines vivantes, c'est dans le suber et l'endoderme que les pigments bruns sont quantitativement les plus importants. Dans les racines mortes, les pigments bruns se localisent dans ces mêmes tissus, mais ils se présentent généralement d'une manière plus diffuse.

Ces pigments bruns sont quantitativement importants, et riches en azote. Dans les racines vivantes, ils représentent environ 13 % du poids total, 15 % du carbone total et 55 % de l'azote total. Dans les racines mortes, les pigments bruns ont une importance un peu plus grande (15 % du poids total), et contiennent environ 17 % du carbone total. Mais surtout, leur teneur en azote, exprimée en % de l'azote total de la racine, est encore beaucoup plus élevée puisqu'elle atteint 85 % de l'azote total. Cette différence est surtout sensible au niveau des extractions DMFA (130° C, 20 h), ce qui montre la grande stabilité de l'azote bloqué dans ces pigments bruns (complexes tanins- protéines). On assisterait donc dans les racines, à des phénomènes analogues à ceux décrits dans les feuilles (Davies, 1971 ; François *et al.*, 1986), à savoir qu'il se produirait au cours du temps des réactions de condensation des composés phénoliques, avec incorporation de matériaux azotés (acides aminés, peptides), qui aboutirait à une forte stabilisation de l'azote dans les pigments bruns.

On remarque d'autre part que les composés hydrosolubles constituent une part non négligeable en poids (13 % du poids total), et en carbone (15 % du carbone total) des racines vivantes. Dans les racines mortes, ces composés sont nettement moins importants (environ 2 fois moins). Il s'agit de composés pauvres en azote (C/N de 124 pour les racines vivantes, et de 84 pour les racines mortes). La disparition de ces composés dans les racines mortes s'explique par le fait que ce sont des composés à structure moléculaire simple, solubles, labiles, et donc facilement biodégradables par la microflore bactérienne.

Les autres produits : pigments colorés, graisses, polyphénols et tanins de bas poids moléculaire n'ont qu'une importance minime dans les racines vivantes et les racines mortes.

Quant à la biodégradation des racines du hêtre, nous avons constaté que l'altération des tissus racinaires commençait par le liber.

La biodégradation de la racine par la mésofaune se fait surtout, dans la station acide étudiée, par des Annélides Oligochètes : les Enchytraéides, qui sont très nombreux dans les humus épais comme les moder (Toutain *et al.*, 1982). Ces animaux s'attaquent préférentiellement au liber, mais peuvent consommer les autres tissus de la racine, par contre ils semblent délaisser le suber (très riche en pigments bruns). Cette activité entraînant une fragmentation de la racine, provoque une augmentation des surfaces des débris racinaires et permet ainsi une mise en contact avec le milieu minéral environnant.

Les observations au MET ont confirmé cette « fragilité » spécifique du liber (tissu cellulosique) par rapport aux tissus lignifiés des racines, et ont permis de distinguer deux modes d'évolution selon qu'il s'agit de tissus cellulosiques ou de tissus lignifiés. — Dans les tissus cellulosiques (parenchymes, liber), ou bien les cellules ont été vidées (à la suite d'une activité bactérienne et fongique), ou bien elles contiennent encore des pigments bruns. Les parois des cellules présentent des altérations avec apparition puis libération de granules de quelques centaines d'angströms opaques aux électrons. Dans certains cas, on peut même observer une lyse de ces parois devenues opaques aux électrons par des bactéries.

— Par contre, dans les tissus lignifiés (bois, sclérenchyme) et dans l'endoderme, on constate l'existence de cellules dont les parois ne paraissent pas

altérées. L'espace cellulaire est vide ou rempli de pigments bruns, pigments bruns pouvant être métabolisés par des champignons de type Basidiomycètes, ce qui se traduit, au MET, par un éclaircissement de ce matériel.

En résumé, cette étude souligne dans les litières racinaires l'importance des pigments bruns auxquels est lié l'essentiel de l'azote de la racine. La transformation des racines superficielles dans le cas du hêtre et dans le milieu étudié (moder sur podzol), se fait par action de la mésofaune (Enchytraéides) et celle de la microflore (bactéries, champignons), les tissus et cellules contenant des pigments bruns en quantité importante persistant longtemps, sans altérations apparentes, dans le sol ; ceci peut être attribué dans cette station d'étude, à la faible activité des champignons de la pourriture blanche et à l'absence de vers de terre anéciques (TOUTAIN, 1974).

RÉSUMÉ

Les pigments bruns ont été localisés dans certains tissus racinaires des racines de surface (surtout dans le suber et dans l'endoderme).

Des extractions successives et sélectives par différents solvants organiques montrent que ces produits sont quantitativement importants et riches en azote. Dans les racines vivantes, ils représentent de l'ordre de 13 % du poids total, 15 % du carbone total, et 55 % de l'azote total, dans les racines mortes, 15 % du poids total, 17 % du carbone total, et 85 % de l'azote total.

La biodégradation des racines de hêtre s'exerce, dans le milieu étudié, (humus de type moder) surtout sous l'influence de la mésofaune (Enchytraéides), et de la microflore (bactéries, champignons), les tissus contenant des pigments bruns en quantité importante persistent plus longtemps dans le sol. Les pigments bruns sont essentiellement biodégradés par des champignons Basidiomycètes de type pourriture blanche. Dans d'autres milieux (humus de type mull à forte activité de vers de terre) il semble que les lombriciens ont, dans ces transformations, un rôle très important.

Cette étude met donc en évidence l'importance des pigments bruns dans les racines et leur relative résistance à la biodégradation.

SUMMARY

Importance of brown pigments in the roots of soil's surface of beech (*Fagus silvatica* L.) and biodegradation in the soil

Brown pigments were localised in some root's tissues (especially in the suber and the endoderma).

Successive and selective extractions with a sequence of organic solvants show that brown pigments are quantitatively important, with high nitrogen content. In the living roots, they represent about 13 % of the total weight, 15 % of the total carbone and 55 % of the total nitrogen, while in the dead roots, they represent respectively 15 %, 17 % and 85 % of the total weight, total carbone and total nitrogen.

The biodegradation of the beech's roots is done, in the environment studied (humus of moder type), mainly on the influence of mesofauna (Enchytraeida), and microflora (Bacteria, Fungi). Tissues with a great deal of brown pigments persist longer in the soil. Brown pigments are especially decay by white rot Basidiomyceta

Fungi. In other environments (humus of mull type with a great earthworm activity), it seems that earthworms have, in those transformations, a very important role.

This study shows the importance of brown pigments in the roots and their relative resistance to biodegradation.

BIBLIOGRAPHIE

ANDREUX (F.), 1981. — Utilisation de molécules modèles de synthèse dans l'étude des processus d'insolubilisation et de biodégradation des polycondensats humiques. *Science du sol*, **4**: 271-292.

BABEL (U.), 1975. — *Moderprofile in Waldern, Morphologie und Umsetzungsprozesse.* Hohemheimer Arbeiten, 50, Stuttgart, Ulmer Publ.

CANNEL (M. G. A.), 1982. — *World Forest Biomass and Primary Production Data.* Acad. Press INC, London.

DAVIES (R. I.), 1971. — Relations of polyphenols to decomposition of organic matter and to pedogenetic processes. *Soil Sci.*, **111**: 80-85.

FOSTER (R. C.), 1978. — *Ultramicromorphology of some South Australian Soils. In:* Modification of Soil Structure (W. W. Emerson, R. C. Bond and A.R. Dexter, Eds)., Wiley, London, 103-109.

FOSTER (R. C.) & MARTIN (J. K.), 1981. — In situ analysis of soil components of biological origin. *Soil Biochem.*, **5**: 75-111.

FRANÇOIS (C.), RAFIDISON (Z.), VILLEMIN (G.), TOUTAIN (F.) & ANDREUX (F.), 1986. — *The accumulation and fate brown pigments in leaves from a litter of Fagus Silvatica L.: a morphological and chemical study. In:* Proc. of 7th Symp. Environm. Biogeochem.

KONONOVA (M. M.) & ALEXANDROVA (I. V.), 1973. — Formation of humic acids during plant residue humification and their nature. *Geoderma*, **9**: 157-165.

LEWIS (J. A.) & STARKEY (R. L.), 1968. — Vegetable tannins, their decomposition and effects on decomposition of some organic compounds. *Soil Sci.*, **106**: 241-247.

LEWIS (J. A.) & STARKEY (R. L.), 1968. — Decomposition of plant tannins by some soil microorganisms. *Soil Sci.*, **107**: 235-241.

MANGENOT (F.), JACQUIN (F.) & METCHE (M.), 1966. — A propos des interactions plante-sol. I. Les exsudats foliaires peuvent-ils être une source de substances humiques ? *Oecol. Plant.*, **1**: 79-102.

METCHE (M.), MANGENOT (F.) & JACQUIN (F.), 1970. — A propos des interactions plante-sol. II. Formation et structure du pigment noir de *Melandryum rubrum. Soil Biol. Biochem.*, **2**: 81-88.

MINDERMAN (G.), 1979. — A tentative approach to the molecular structure of humic acids: the spectral evidence for a derivation of humic acids from plant borne esters. 2. Infrared and chemical analysis. *Netherl. J. Agri. Sci.*, **27**: 153-173.

NICOLAUS (R. A.), 1968. — *Melanins.* Hermann, 310 p.

RAFIDISON (Z.), 1982. — *Rôle de la faune dans l'humification. Transformation des feuilles de hêtre par un ver anécique (Nicodrilus velox).* Thèse de Doctorat de 3e cycle, Université de Nancy I.

REYNOLDS (E. S.), 1963. — The use of lead citrate at high pH as an electron stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, **17**: 208-212.

THOMPSON (R. S.), JACQUES (D.), HASLAM (E.) & TANNER (R. J. H.), 1972. — Plant proanthocyanidins. Part. I. : The isolation, structure and distribution in nature of plant procyanidins. *J. Chem. Soc. erkin Trans.* **I**: 11, **9-10**: 1387-1399.

TOUTAIN (F.), 1972. — Étude comparée de deux hêtraies sur grès rhétien : divergences pédoclimatiques et biochimiques. *Bull. ENSA, Nancy*, **14**: 103-116.

TOUTAIN (F.), 1974. — *Étude écologique de l'humification dans les hêtraies acidiphiles.* Thèse de Doctorat d'État, Université de Nancy I, 114 p.

TOUTAIN (F.), 1981. — Les humus forestiers — Structures et modes de fonctionnement. *Rev. Forest. Franç.*, XXXIII : 449-477.

TOUTAIN (F.), VILLEMIN (G.), ALBRECHT (A.), REISINGER (O.), 1982. — Étude ultrastructurale des phénomènes de biodégradation. II. Modèle Enchytraéides — litière de feuillus. *Pédobiol.*, **23**: 145-156.

ZACHARIAE (G.), 1964. — *Welche bedeutung haben Enchytraeen im waldboden. In* : A Jongerius (Ed.). Soil Micromorphology Proc. 2nd Int. Working Meet. on Soil Micromorphology. Arnhem, Amsterdam. Elsevier Amsterdam Publ.